

Untersuchungen zur optimalen Bestimmung der Paraoxonase-Typen im menschlichen Serum

von

Mathias Stephan

aus

Sulzbach-Rosenberg

1973 № 173



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Untersuchungen zur optimalen Bestimmung der Paraoxonase-Typen im menschlichen Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Mathias Stephan

aus

Sulzbach-Rosenberg



Dekan: Professor Dr. Dr. H. Pauly
Referent: Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt
Korreferent: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 3. 1973

MEINEN LIEBEN ELTERN

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	4
II. Problemstellung	7
III. Experimentelle Untersuchungen	
1. Methodik der Messung der Serum-Cholinesterase-Restakti- vität mit Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid als Substrate (in der Warburg-Appa- ratur)	9
a. Gewinnung des Serums	9
b. Angewandtes Meßverfahren .	9
c. Inkubation mit E 600 (Paraoxon)	9
d. Messung der Cholinesterase- aktivität	10
2. Versuchsergebnisse	11
3. Auswertung	16
IV. Diskussion und Zusammenfassung .	17
V. Literaturverzeichnis	

I. Einleitung

Zur Charakterisierung der Toxizität von Alkylphosphaten wird oft die molare Konzentration an Wirkstoff angegeben, die in der Lage ist, die Aktivität von Cholinesterasen auf die Hälfte zu erniedrigen (I_{50}). Dieser Wert ist von der Art der Cholinesterase sowie auch den Versuchsbedingungen abhängig. Für E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) und Serumcholinesterasen sind in der Literatur Werte entsprechend Tabelle I genannt.

Tabelle I

I_{50} - Werte für Serumcholinesterasen verschiedener Herkunft (aus der Literatur)

Herkunft des Serums	I_{50}	Autor
?	$1,4 \times 10^{-7}$	Schrader (1963)
Pferd	$1,4 \times 10^{-7}$	Heath (1961)
Ratte	$2,63 \times 10^{-8}$	Heath (1961)
?	$1,26 \times 10^{-7}$	Heath (1961)
Mensch	$0,87 \times 10^{-8}$	Rosival u. Mitarb. (1959)

Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf (1969) sowie Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) haben nach Inkubation menschlicher Serumcholinesterasen mit E 600 unterschiedliche Vergiftungsgrade des Fermentes durch den Hemmstoff festgestellt. Bei Messung der Cholinesteraseaktivität von 75 menschlichen Seren nach Inkubation mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration fanden sie unabhängig von der Ausgangsaktivität eine Aufteilung in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität (siehe Tabelle II).

Tabelle II

Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung von 75 menschlichen Serumproben mit E 600 ($c = 3,2 \times 10^{-8}$ molar), und Aufteilung in drei Gruppen

Gruppe	Anzahl der Personen	Restaktivität in % d. Normalaktivität
I	38	0 - 5,5 (niedrig)
II	22	12 - 22 (mittel)
III	15	29 - 51 (hoch)

Die gefundenen Unterschiede in der Restaktivität der Serumcholinesterasen nach Inkubation in vitro mit E 600 (0,0-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) in bestimmter Konzentration werfen eine Reihe von Fragen auf, besonders die Ursachen, die Verteilung in der Bevölkerung und eine eventuelle genetische Bedingtheit. Wie Geldmacher-v.Mallinckrodt, Baumgartner, Pétényi, Burgis, Lindorf und Metzner (1972) bei 50 Versuchspersonen zeigten, besteht zwischen Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 und der Aktivität der Serum-Arylesterase (Paraoxonase, EC 3.1.1.2.) eine hochsignifikante Korrelation derart, daß eine hohe Cholinesterase-Restaktivität einer hohen Paraoxonase-Aktivität entspricht. Nach Geldmacher-v.Mallinckrodt, Pétényi, Flügel, Burgis, Dietzel, Metzner, Nirschl und Renner ist die menschliche Serum-Paraoxonase ein sehr spezifisches Enzym, das schon auf geringfügige Veränderungen am Substratmolekül reagiert. Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller haben gezeigt, daß die menschliche Serum-Paraoxonase einen Polymorphismus aufweist. Wie Untersuchungen an 35 Familien mit 52 Kindern ergaben, ist dieser wahrscheinlich genetisch determiniert, und folgt einem einfachen 2-Allele-Modell.

II. Problemstellung

Typenverteilung und Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase müssen noch an wesentlich größeren Kollektiven untersucht werden.

Nach Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pátényi, Flügel, Fischer und Hiller ist die Bestimmung der Paraoxonase-Typen über die Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 besser geeignet als die direkte Messung der Paraoxonase-Aktivität über aus E 600 freigesetztem p-nitrophenyl nach Krisch (1968).

Für die Abgrenzung der Gruppen über die Restaktivität der Serumcholinesterase ist eine sichere Bestimmung ohne Mitwirkung von Erythrozyten-Acetylcholinesterase nötig.

Bei einem fraglich hämolytischen Serum ist bei Verwendung von Acetylcholinchlorid die Spaltung des Substrats durch die Erythrozyten-Cholinesterase möglich. Hierdurch können Unterschiede in der Restaktivität der Serumcholinesterase nach Inkubation mit E 600 (Paraoxon) bedingt sein. Um eine derartige Interpretation des von Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf (1969) an 75 Serien beobachteten Effektes auszuschließen, mußten parallele Versuche unter Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat gemacht werden.

Es wurde die Meinung vertreten, daß das physiologische Substrat der Serumcholinesterase keinesfalls Acetylcholin sei. In Frage käme als Substrat Butyrylcholin, da Whittaker (1968) beobachtete, daß kein anderes Substrat so schnell wie Butyrylcholin durch die Serumcholinesterase abgebaut wird.

Nun lag es nahe, zu prüfen, ob die unterschiedliche Reaktion der Serumcholinesterase nach Vergiftung mit

E 600 in $c = 3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration abhängig ist von dem Substrat für die Serumcholinesterase, und ob eine Spaltung von Butyrylcholin unter Umständen sogar zu einer besseren Differenzierung der Typen führen würde, worauf schon Lindorf in einigen orientierenden Versuchen hingewiesen hatte.

Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen war es, bei Seren von 18 Personen (11 Männer und 7 Frauen), Zufallsauswahl, Blutspender der Erlanger Blutbank, einen Vergleich der erhaltenen Werte der beiden Substrate Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid anzustellen und sie auf Korrelation zu prüfen.

III. Experimentelle Untersuchungen

1. Methodik zur Messung der Serumcholinesterase-Aktivität mit Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid als Substrate (in der Warburg-Apparatur)

a. Gewinnung des Serums

Es wurde Erwachsenen 20 ml Blut entnommen, das etwa 1/2 Stunde nach Entnahme 15 Min. bei 1600 Umdrehungen/sec. zentrifugiert wurde, wobei das überstehende Serum nicht hämolytisch werden durfte. Das erhaltene Serum wurde sofort abgetrennt und spätestens nach zwei Tagen die erste Messung durchgeführt.

b. Angewandtes Meßverfahren

Die Serumcholinesterase-Aktivität wurde in einer Warburg-Apparatur Typ V 85 der Firma Braun; Messungen, mit der manometrischen Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958), jedoch bei einem pH-Wert von 7,2 bestimmt. Die Bedingungen der Inkubation mit E 600 wurden auf die nachfolgende Aktivitätsmessung abgestimmt.

c. Inkubation mit E 600 (Paraoxon)

Für die Vergiftung des Fermentes wurden 1 μ l E 600 auf 90 ml H_2O gegeben. Je 10 μ l dieser Lösung wurden dann zu 13,5 ml der als Verdünnungslösung für das Serum verwendeten Salzlösung gebracht. Diese Verdünnungslösung war eine Mischung aus 10 Teilen einer 0,9 %igen NaCl-Lösung und 3 Teilen einer 1,26 %igen $NaHCO_3$ -Lösung. Vor Gebrauch wurde sie mit einem Gasgemisch aus 5 % CO_2 und 95 % N_2 durchströmt.

Zur Vergiftung wurden 0,15 ml Serum mit 1,35 ml der E 600-haltigen Verdünnungslösung verdünnt. Die E 600-Konzentration im Inkubationsansatz war $c = 3,2 \times 10^{-8}$ molar.

Die Ansätze wurden sofort in ein Wasserbad von 37°C gebracht. Von den Inkubationsansätzen wurden je 0,5 ml in die Anhangsbirne eines Warburggefäßes gegeben, das im Hauptraum 1,5 ml einer 0,5 %igen wässrigen Lösung von Acetylcholinchlorid bzw. 0,546 %igen Lösung von Butyrylcholinjodid enthielt. Die Warburggefäße wurden nun an Manometer angeschlossen und in ein Wasserbad von 37°C gebracht. Anschließend wurden alle Manometer mit einem Gasgemisch aus 5 % CO₂ und 95 % N₂ begast. Nach dem Begasen wurde noch so lange bei 37°C inkubiert, daß eine Gesamt-Inkubationszeit von 60 Min. erreicht war. Der pH-Wert lag während der Inkubation etwa bei 7,7 (Süllmann, 1964).

d. Messung der Cholinesterase-Aktivität

Nach beendeter Inkubation wurde die Serumverdünnung der Anhangsbirne in den Hauptraum der Warburggefäße gekippt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2 (Süllmann, 1964).

Es wurde bei geöffneten Hähnen 3 Min. geschüttelt (Schüttelfrequenz 100/min.) und anschließend die Manometerhähne geschlossen. Der Manometerstand wurde sodann 30 Min. (Butyrylcholinjodid) bzw. 1 Std. (Acetylcholinchlorid) lang alle 15 Min. abgelesen.

Die Seren wurden in Doppelbestimmungen mit und ohne E 600 und sowohl mit Acetylcholinchlorid als auch

mit Butyrylcholinjodid als Substrate auf ihre Restaktivität getestet. Zur Kontrolle liefen je Versuch zwei Leerwerte mit, in welchen die Anhangsbirne des Kölbchens nur Verdünnungslösung enthielt, wodurch die Eigenhydrolyse der beiden Substrate erfaßt wurde. Insgesamt konnte in einem Versuchsablauf ein Serum mit jeweils zwei Leerwerten, zwei unvergifteten und zwei vergifteten Werten auf seine Restaktivität geprüft werden.

Es wurde darauf geachtet, daß der Anstieg der Manometersäulen linear erfolgte. War diese Forderung erfüllt, wurden die 30 Min.-Werte bzw. 60 Min.-Werte der Doppelmessung mit den jeweils entsprechenden Manometerkonstanten (Süllmann, 1964) multipliziert. Ebenso wurde der Leerwert errechnet. Sodann wurde das arithmetische Mittel beider Wertepaare gebildet und der Leerwert von der Fermentmessung abgezogen.

Die Angabe der Aktivität erfolgt in $\mu\text{l CO}_2/\text{Std.}$ bezogen auf 0,15 ml Serum.

2. Versuchsergebnisse

Die aus den Seren von 18 Personen gewonnenen Versuchsergebnisse sind in Tabelle III zusammengestellt. Eine graphische Darstellung über den Vergleich der mit den beiden Substraten gewonnenen Werte ist in Abb. I gegeben.

Tabelle III

Versuchsergebnisse der Messungen der Serumcholinesterase-Aktivität mit den beiden Substraten Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid ohne und mit Vergiftung mit E 600 bei 18 Versuchspersonen.

Versuchs- personen	Restaktivität in % der Normalaktivi- tät nach Vergiftung		Mittelwert der Restaktivität in % der Normalaktivität nach Vergiftung	
	Substrate		Substrate	
	Acetyl- cholin- chlorid	Butyryl- cholin- jodid	Acetyl- cholin- chlorid	Butyryl- cholin- jodid

Niedriger Typ = Gruppe I

Schüttler	a. 0	a. 0,7		
Gerhard 31J.	b. 1,2	b. 2,9	0,6	1,8
Kick	a. 0,2	a. 2,3		
Ursula 21J.	b. 1,2	b. 2,3	0,7	2,3
Schätzer	a. 1,6	a. 3,4		
Helmut 35J.	b. 2,2	b. 1,2	1,9	2,3
Schuster	a. 0,8	a. 2,1		
Alfred 34J.	b. 3,0	b. 3,3	1,9	2,7
Hartmann	a. 0	a. 1,2		
Gerda 37J.	b. 2,4	b. 4,8	1,2	3,0

Neutzner	a. 4,6	a. 3,3		
Gerhardt 20J	b. 2,9	b. 2,9	3,8	3,1
Baerwald	a. 2,1	a. 5,2		
Rolf 23J.	b. 3,7	b. 2,6	2,9	3,9
Schich	a. 2,9	a. 4,4		
Joseph 59J.	b. 5,9	b. 5,4	4,4	4,9
Stephan	a. 3,9	a. 5,7		
Mathias 25J.	b. 4,3	b. 4,5	4,1	5,1

Mittlerer Typ = Gruppe II

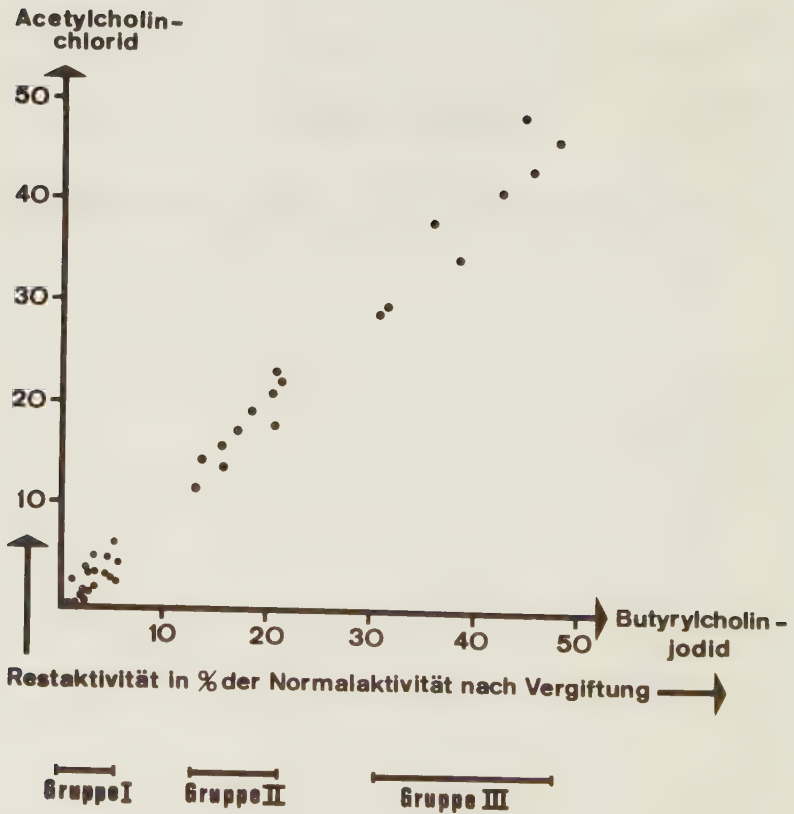
Hubeny	a. 13,4	a. 15,6		
Siegfried 36J.	b. 11,2	b. 12,8	12,3	14,7
Trage	a. 14,1	a. 13,7		
Rolf 32J.	b. 15,7	b. 15,7	14,9	14,7
Dudeu	a. 20,6	a. 20,7		
Ulrike 22J.	b. 16,8	b. 17,3	18,7	19,0
Stark	a. 19,1	a. 18,3		
Erwin 23J.	b. 17,5	b. 20,7	18,3	19,5
Floerke	a. 21,9	a. 21,4		
Edith 51J.	b. 22,9	b. 20,8	22,4	21,1

Hoher Typ = Gruppe III

Ebner	a. 29,3	a. 31,5		
Creszentia 48J	b. 28,5	b. 30,7	28,9	31,1
Falcke	a. 37,5	a. 35,8		
Dietrich 38J.	b. 33,9	b. 38,6	35,7	37,2
Saub	a. 42,5	a. 45,3		
Gabi 19J.	b. 40,7	b. 42,7	41,7	44,0
Wastl	a. 45,7	a. 47,9		
Monika 46J.	b. 48,1	b. 44,7	46,9	46,3

Abbildung I

Vergleichende Darstellung der mit den beiden Substraten Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid erhaltenen Restaktivitäten nach Vergiftung mit E 600 bei 18 menschlichen Seren



3. Auswertung

Die einzelnen Typen ließen sich unter Verwendung von Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid gut unterscheiden, wobei die Gruppe niedriger E 600-spaltender Aktivität mit dem Substrat Acetylcholinchlorid eine durchschnittliche Restaktivität von 2,4 %, die mittlere Gruppe eine durchschnittliche Restaktivität von 17,3 % und die hohe Gruppe von durchschnittlich 38,3 % aufwies. Bei den parallel durchgeführten Versuchen mit Butyrylcholinjodid als Substrat ergab sich für Gruppe I der durchschnittliche Wert von 3,2 %, für Gruppe II 17,8 % und für Gruppe III 39,6 %.

Die Meßwerte bei Verwendung von Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid zeigen starke Korrelation. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = 0,9975$, d.h. daß an Stelle von Acetylcholinchlorid als Substrat ebenso gut Butyrylcholinjodid verwendet werden kann.

IV. Diskussion und Zusammenfassung

Die von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf und Rabast (1969) gefundenen Unterschiede in der Vergiftbarkeit menschlicher Serumcholinesterasen mit E 600 (Paraoxon) (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) machen schon bei der relativ geringen Zahl (75 Seren) der untersuchten Seren eine Einteilung in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität möglich. Ursache hierfür ist eine unterschiedlich große Paraoxonase-Aktivität, die über die Cholinesterase-Restaktivität sehr sicher zu bestimmen ist.

Da bei einem fraglich hämolytischen Serum Unterschiede in der Restaktivität der Serumcholinesterase nach Inkubation mit E 600 (Paraoxon) durch die Spaltung von Acetylcholinchlorid durch die Erythrozyten-Cholinesterase möglich sind, machte ich parallele Versuche unter Verwendung von Acetylcholinchlorid und Butyrylcholinjodid als Substrat.

Die Restaktivität der Serumcholinesterase bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat nach Vergiftung mit E 600 in $3,2 \times 10^{-8}$ molarer Konzentration von 18 Seren unbekannter E 600-spaltender Aktivität im Serum ließ die drei unterschiedlichen Typen deutlich sichtbar werden. Die Methodik bietet den Vorteil, daß bei gleicher Serummenge (0,15 ml) die CO_2 -Entwicklung mehr als das Doppelte beträgt als bei Acetylcholinchlorid, und so die Meßdauer auf die Hälfte der Zeit verkürzt werden kann. Durch die Substratspezifität der Erythrozyten-Cholinesterase gegen Acetylcholinchlorid kann selbst in einem hämolytischen Serum bei Verwendung von Butyrylcholinjodid

als Substrat die unterschiedliche Aktivität des E 600-spaltenden Fermentes im Serum sicher nachgewiesen werden.

Die von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf und Rabast (1969) gefundenen Unterschiede in der Vergiftbarkeit menschlicher Serumcholinesterasen mit dem Alkylphosphat E 600, die schon bei der geringen Anzahl der untersuchten Seren eine Einteilung in drei Gruppen möglich machten, sind wahrscheinlich genetisch gesteuert.

Familienuntersuchungen zur Klärung dieser Frage und auch die Festlegung der Verteilung der drei Paraoxonase-Typen in der Bevölkerung sind mit Butyrylcholinjodid als Substrat der Cholinesterase schneller und sicherer möglich als mit Acetylcholinchlorid.

V. Literaturverzeichnis

1. Ammon, R.:

Die fermentative Spaltung des Acetylcholins
Pflügers Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)

2. Friedberg, K.D. und F. Sakai:

Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkylphosphaten (e 600, E 605, Systox) im Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines fermentreaktiveringenden Antidots (Pyridin-Aldoxim-Methyljodid, PAM)

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 47, 580 (1958)

3. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M., W. Baumgartner, M. Pétényi, H. Burgis, H.H. Lindorf und H. Metzner:

Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600-spaltenden Enzym-Systems in menschlichen Seren

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 217 (1972)

4. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M. und H.H. Lindorf:

Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit Alkylphosphaten

Vortrag auf der 48. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Berlin, 6. - 9.10.1969

5. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M., H.H. Lindorf, M. Pétényi, M. Flügel, Th. Fischer und Th. Hiller:

Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase (EC 3.1.1.2.)

Humangenetik, im Druck

6. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M., M. Pétényi, M. Flügel, H. Burgis, B. Dietzel, H. Metzner, H. Nirschl und O. Renner:
Zur Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., im Druck
7. Geldmacher-v.Mallinckrodt, M., U. Rabast und H.H. Lindorf:
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat)
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)
8. Heath, D.F.:
Organophosphorus poisons
Oxford - London - New York - Paris: 1961
9. Kimmerle, G. und D. Lorke:
Die Toxikologie der insektiziden Phosphorsäureester
Pflanzenschutznachrichten Bayer 21, 111 (1968)
10. Krisch, K.:
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenyl-phosphat (E 600) durch menschliches Serum
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 8, 41 (1968)
11. Rosival, Vrobovsky und Selecky:
Toxikologia a farmakoboidynamika organofosforovich zlucenin, Bratislava 1959
Zit. nach Kimmerle und Lorke, 1968

12. Schrader, G.:

Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäure-
-Ester

Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie, 1963

13. Süllmann, E.:

Manometrische Methoden zur Untersuchung des Ge-
webestoffwechsels

In: Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-
-Chemischen Analyse, hrsg. von K. Lang und E. Lehn-
artz, Bd. VI A, Teil A.

Berlin - Göttingen - Heidelberg - New York:
Springer 1964

14. Whittaker, M.:

The pseudocholinesterase variants. Differentiation
by means of alkyl alcohols

Acta genet. (Basel) 18, 25 (1968)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig meinen aufrichtigen Dank aussprechen für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und die Übernahme des Korreferates.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, ihre ungewöhnlich große Hilfsbereitschaft, die zahlreichen Diskussionen und für den jederzeit freundlich erteilten Rat.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Lorke, Leiter des Institutes für Toxikologie der Firma Bayer Ag, für die Überlassung von reinem E 600.

Frau Pétényi und Herrn Opitz bin ich für ihre Hilfe bei der Auswertung und der Darstellung der Ergebnisse meiner Arbeit sehr verbunden.

Lebenslauf

Personalien: Mathias Stephan, geb. 23.11.1947
zu Sulzbach-Rosenberg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Vater: Dr. Hubert Stephan, Zahnarzt
Mutter: Ilse Stephan, geb. Muttwill

Ausbildung: Volksschule: 1954 - 1958
Sulzbach-Rosenberg
Höhere Schule: 1958 - 1967
Math.-nat. Gymnasium
Sulzbach-Rosenberg
Reifezeugnis des math.-nat. Gymnasiums
Sulzbach-Rosenberg
vom 21. Juli 1967
Universität: Seit WS 1967/68 Studium der Zahnmedizin
an der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg
Prüfungen: 1. Naturwissenschaftliche Vorprüfung:
30. Juli 1968
2. Zahnärztliche Vorprüfung:
29. April 1970
3. Zahnärztliches Staatsexamen:
12. Oktober 1972

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990